

R U 2 0 1 1 1 0 1 5 3 6 A

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) 2011 101 536<sup>(13)</sup> A

(51) МПК  
A61K 38/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2011101536/15, 17.06.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
18.06.2008 US 61/073,708

(43) Дата публикации заявки: 27.07.2012 Бюл. № 21

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 18.01.2011

(86) Заявка РСТ:  
US 2009/047694 (17.06.2009)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2009/155366 (23.12.2009)

Адрес для переписки:  
129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры", пат.пов. А.В.Мицу, рег.№ 364

(71) Заявитель(и):

ДЗЕ РИДЖЕНТС ОФ ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ  
ОФ КАЛИФОРНИЯ (US)

(72) Автор(ы):

БИЛИКИ Джон К. (US),  
ЙОХАНССОН Ян (US)

(54) УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЕ ПЕПТИДНЫЕ МЕДИАТОРЫ ОТТОКА ХОЛЕСТЕРИНА

(57) Формула изобретения

1. Выделенный полипептид, содержащий следующую аминокислотную  
последовательность:

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>X<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>X<sub>19</sub>X<sub>20</sub>  
(SEQ ID NO:1),

где X<sub>1</sub>, X<sub>7</sub>, и X<sub>15</sub> представляют аминокислоты, независимо выбранные из группы,  
состоящей из E и D;

X<sub>4</sub>, X<sub>11</sub>, и X<sub>18</sub> представляют аминокислоты, независимо выбранные из группы,  
состоящей из E, D, A и G;

X<sub>2</sub>, X<sub>6</sub>, X<sub>9</sub>, X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> и X<sub>20</sub> представляют аминокислоты, независимо  
выбранные из группы, состоящей из F, L, W, I, V, и A;

X<sub>3</sub>, X<sub>5</sub> и X<sub>19</sub> представляют аминокислоты, независимо выбранные из группы,  
состоящей из R, K и C;

X<sub>14</sub> представляет аминокислоту R, A, E или C; и

X<sub>8</sub> представляет A, G или V.

2. Выделенный полипептид по п.1, где X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>16</sub> и X<sub>17</sub> независимо выбраны из  
группы, состоящей из F, L, I и W.

3. Выделенный полипептид по п.2, где X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>16</sub> и X<sub>17</sub> независимо выбраны из F

R U 2 0 1 1 1 0 1 5 3 6 A

RU 2011101536 A

и L.

4. Выделенный полипептид по п.1, где X<sub>9</sub> представляет L, F или W.

5. Выделенный полипептид по п.1, где по меньшей мере три из положений X<sub>2</sub>, X<sub>6</sub>, X<sub>12</sub> и X<sub>17</sub> представляют L.

6. Выделенный полипептид по п.1, где одно или более положений X<sub>4</sub>, X<sub>8</sub> и X<sub>11</sub> представляют A.

7. Выделенный полипептид по п.6, где X<sub>8</sub> представляет A.

8. Выделенный полипептид по п.1, где X<sub>4</sub>, X<sub>11</sub> и X<sub>18</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из D и E.

9. Выделенный полипептид по п.1, где C присутствует в одном положении, выбранном из группы, состоящей из X<sub>3</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>14</sub> и X<sub>19</sub>.

10. Выделенный полипептид по п.1, где указанный выделенный полипептид содержит:

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>AX<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>X<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>X<sub>19</sub>X<sub>20</sub>

(SEQ ID NO:27),

где X<sub>1</sub>, X<sub>7</sub>, X<sub>15</sub> и X<sub>18</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из D и E;

X<sub>2</sub> представляет L, I или V;

X<sub>4</sub> и X<sub>11</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из D, E и A;

X<sub>3</sub>, X<sub>5</sub> и X<sub>19</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из K и R;

X<sub>9</sub> представляет W, F или L;

X<sub>14</sub> представляет R, E или A; и

X<sub>6</sub>, X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> и X<sub>20</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из F, L, I и W.

11. Выделенный полипептид по п.10, где X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> и X<sub>20</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из F и L.

12. Выделенный полипептид по п.10, где указанный полипептид содержит:

X<sub>1</sub>LRA(X<sub>5</sub>)LX<sub>7</sub>AX<sub>9</sub>X<sub>10</sub>AX<sub>12</sub>X<sub>13</sub>RX<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>RX<sub>20</sub> (SEQ ID NO:28), где

X<sub>1</sub>, X<sub>7</sub>, X<sub>15</sub> и X<sub>18</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из D и E;

X<sub>5</sub> представляет K или R;

X<sub>9</sub> представляет F, L или W; и

X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> и X<sub>20</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из F и L.

13. Выделенный полипептид по п.10, где указанный выделенный полипептид содержит:

X<sub>1</sub>LRX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>LX<sub>7</sub>AX<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>RX<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub>X<sub>18</sub>RX<sub>20</sub> (SEQ ID NO:29), где

X<sub>1</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>7</sub>, X<sub>11</sub>, X<sub>15</sub> и X<sub>18</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из D и E;

X<sub>5</sub> представляет K или R;

X<sub>9</sub> представляет F, L или W; и

X<sub>10</sub>, X<sub>12</sub>, X<sub>13</sub>, X<sub>16</sub>, X<sub>17</sub> и X<sub>20</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из F и L.

14. Выделенный полипептид по п.13, где полипептид содержит:

ELR(D/E)(K/R)LEA(W/F/L)(F/L)(D/E)L(F/L)RE(F/L)LER(F/L) (SEQ ID NO:30).

15. Выделенный полипептид по п.1, дополнительно содержащий X<sub>21</sub>, где X<sub>21</sub> выбран из группы, состоящей из C, K, Y или L.

16. Выделенный полипептид по любому из пп.1-15, дополнительно содержащий X<sub>22</sub>, где X<sub>22</sub> представляет S или C.

17. Выделенный полипептид по п.15, где X<sub>21</sub> представляет K.

18. Выделенный полипептид по п.17, где X<sub>22</sub> представляет S.

19. Выделенный полипептид по п.16, где X<sub>21</sub> или X<sub>22</sub> представляет C.

20. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид дополнительно содержит защитную группу.

RU 2011101536 A

21. Выделенный полипептид по п.20, где защитная группа представляет собой защитную группу, выбранную из группы, состоящей из ацетила (Ac), амида, алкильных групп, содержащих от 3 до 20 атомов углерода, Fmoc, трет-бутоксикарбонила (Tbos), 9-фторацетильной группы, 1-фторкарбоксильной группы, 9-фторкарбоксильной группы, 9-фторенон-1-фторкарбоксильной группы, бензилоксикарбонила, ксантила (Xan), тритила (Trt), 4-метилтритила (Mtt), 4-метокситритила (Mmt), 4-метокси-2,3,6-триметилбензолсульфонила (Mtr), меситилен-2-сульфонила (Mts), 4,4-диметоксибензидрила (Mbh), тосила (Tos), 2,2,5,7,8-пентаметилхроман-6-сульфонила (Pmc), 4-метилбензила (MeBzl), 4-метоксибензила (MeOBzl), бензилокси (BzlO), бензила (Bzl), бензоила (Bz), 3-нитро-2-пиридинсульфенила (Npys), 1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексилиден)этила (Dde), 2,6-дихлорбензила (2,6-DiCl-Bzl), 2-хлорбензилоксикарбонила (2-Cl-Z), 2-бромбензилоксикарбонила (2-Br-Z), бензилоксиметила (Bom), циклогексилокси (cHxO), трет-бутоксиметила (Bum), трет-бутокси (tBuO), трет-бутила (tBu) и трифторацетила (TFA).

22. Выделенный полипептид по п.20, где защитная группа соединена с амино- или карбоксионцом.

23. Выделенный полипептид по п.20, где полипептид содержит первую защитную группу, соединенную с аминоконцом, и вторую защитную группу, соединенную с карбоксильным концом.

24. Выделенный полипептид по п.23, где указанная первая защитная группа представляет собой защитную группу, выбранную из группы, состоящей из ацетила, пропионила и алкила с 3-20 атомами углерода.

25. Выделенный полипептид по п.24, где первая защитная группа представляет собой ацетил.

26. Выделенный полипептид по п.23, где вторая защитная группа представляет собой амид.

27. Выделенный полипептид по п.1, где все энантиомерные аминокислоты представляют собой "D" аминокислоты.

28. Выделенный полипептид по п.1, где энантиомерные аминокислоты представляют собой смесь "L" аминокислот и "D" аминокислот.

29. Выделенный полипептид по п.1, где пептид связан со вторым пептидом, имеющим последовательность по п.1.

30. Выделенный полипептид по п.29, где второй пептид имеет такую же последовательность как первый пептид.

31. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид обладает активностью в отношении оттока холестерина.

32. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид вызывает образование пре- $\beta$  в плазме человека.

33. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид обладает активностью стабилизации ABCA1.

34. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид защищает фосфолипид от окисления окисляющим агентом.

35. Выделенный полипептид по п.1, где полипептид смешивается с фармацевтически приемлемым носителем.

36. Пептидомиметик, имеющий трехмерную конформацию, по существу аналогичную полипептиду по любому из пп.1-34.

37. Пептидомиметик по п.36, где пептидомиметик представляет собой ретро-инверсоаналог.

38. Пептидомиметик по п.36, где пептидомиметик представляет собой ретро-

энантио аналог.

39. Композиция, содержащая полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 и фармацевтически приемлемый носитель.

40. Композиция по п.39, дополнительно содержащая терапевтическое средство для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

41. Композиция по п.40, где терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из статина, агента, связывающего желчные кислоты, ингибитора образования тромбоцитарных сгустков, никотинамида, активатора PPAR, витамина Е и их комбинации.

42. Композиция, содержащая полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38, образовавшие комплексы с липидом.

43. Композиция по п.42, где указанный липид представляет собой фосфолипид.

44. Композиция по п.43, где фосфолипид представляет собой 1-пальмитоил-2-олиоил-sn-глицерол-фосфатидилхолин ("POPC").

45. Композиция по любому из пп.42-44, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

46. Способ опосредования оттока холестерина у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему полипептида по любому из пп.1-34, посредством чего опосредуется отток холестерина.

47. Способ по п.46, где указанный полипептид стабилизирует ABCA.

48. Способ по п.47, где указанный ABCA представляет собой ABCA1.

49. Способ по п.46, где указанный полипептид обладает антиоксидантной активностью.

50. Способ по п.46, где указанный полипептид обладает противовоспалительной активностью.

51. Способ по п.46, где указанное млекопитающее представляет собой человека.

52. Способ по п.46, где указанное млекопитающее представляет собой млекопитающее, отличное от человека.

53. Способ лечения симптома атеросклероза у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества полипептида по любому из пп.1-34.

54. Способ по п.53, где млекопитающее представляет собой млекопитающее, у которого диагностировано наличие одного или более симптомов атеросклероза.

55. Способ по п.53, где у указанного млекопитающего диагностировано наличие риска атеросклероза.

56. Способ по п.53, где указанное млекопитающее представляет собой человека.

57. Способ по п.53, где указанное млекопитающее представляет собой млекопитающее, отличное от человека.

58. Способ стабилизации уязвимой бляшки в стенке просвета в теле млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему полипептида по любому из пп.1-34.

59. Способ по п.58, где указанное млекопитающее представляет собой млекопитающее, у которого диагностировано наличие одной или более уязвимых бляшек.

60. Способ по п.58, где указанное млекопитающее представляет собой млекопитающее, у которого диагностирован риск наличия одной или более уязвимых бляшек.

61. Способ получения варианта полипептида, содержащего амфипатическую α-спираль, где вариант обладает активностью в отношении оттока холестерина и/или активностью в отношении стабилизации ABCA, включающий:

- (а) получение полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2;
- (б) замещение по меньшей мере одного положения аминокислоты указанного полипептида для генерирования варианта полипептида;
- (с) скрининг указанного варианта полипептида на наличие активности в отношении оттока холестерина и/или активности стабилизации ABCA;
- (д) выбор указанного варианта полипептида, который имеет по меньшей мере 80% активности полипептида в отношении оттока холестерина полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и/или выбор варианта полипептида, который имеет по меньшей мере 80% активности полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, в отношении стабилизации ABCA; и
- (е) синтез выбранного варианта полипептида.

62. Способ по п.61, где указанный вариант полипептида содержит по меньшей мере одну D аминокислоту.

63. Способ по п.61, где карбоксиконец указанного варианта полипептида содержит D аминокислоту, и аминоконец указанного варианта полипептида содержит D аминокислоту.

64. Способ по п.61, где указанный вариант полипептида содержит все D аминокислоты.

65. Набор для лечения симптома атеросклероза, включающий контейнер, содержащий полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38.

66. Набор по п.65, дополнительно содержащий фармацевтически приемлемый носитель.

67. Набор по п.65, где указанный полипептид комбинируется с фармацевтически приемлемым носителем в стандартной лекарственной препаративной форме.

68. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в качестве лекарственного средства.

69. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в лечении расстройства, связанного с дислипидемией.

70. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в лечении расстройства оттока холестерина.

71. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в лечении гиперхолестеринемии.

72. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в лечении воспаления.

73. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения в лечении атеросклероза или для предотвращения симптома атеросклероза.

74. Выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38 для применения при лечении для стабилизации бляшек.

75. Применение выделенного полипептида по любому из пп.1-34 или пептидомиметика по любому из пп.36-38 для связывания с ABCA *in vitro*.

76. Выявляемый аффинный лиганд, содержащий выделенный полипептид по любому из пп.1-34 или пептидомиметик по любому из пп.36-38, непосредственно или опосредованно связанный с выявляемой частью.

77. Выявляемый аффинный лиганд по п.76, где указанная метка выбрана из группы, состоящей из флюоресцентных красителей, металлов, хромофорных красителей, хемилюминесцентных соединений, биolumинесцентных белков, ферментов,

радиоизотопов, магнитных частиц оксида железа, содержащих газ пузырьков и квантовых элементов.

R U 2 0 1 1 1 0 1 5 3 6 A

R U 2 0 1 1 1 0 1 5 3 6 A